

## МЕТОДОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ІДЕНТИФІКАЦІЇ АСТРОЦИТІВ

Макаренко О.М.<sup>1</sup>, Петров П.І.<sup>2</sup>, Хомяк Н.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Міжрегіональна академія управління персоналом, Київ

<sup>2</sup>Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ

<sup>3</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія», Дніпро

*Анотація.* Завдання ідентифікації астроцитів є складним, оскільки вони демонструють морфологічну неоднорідність в порівнянні з нейронами, та ще не виявлено універсального маркера астрогліальних клітин, ні ідеального астроглія-специфічного промотору. Головними напрямками в ідентифікації астроцитів є використання класичних гістологічних методів, генетичного профілювання та імуноцитохімічних досліджень, які мають як свої переваги, так і обмеження для використання, що також суттєво залежить від аналізованої ділянки мозку.

*Ключові слова:* астроцити, ідентифікація, гістологічний аналіз, генетичне профілювання, імуноцитохімія, нейроглія.

Візуалізація та ідентифікація астроцитів, особливо препаратів *in situ* і в мозку *in vivo* є складним завданням. Труднощі полягають у надзвичайній морфологічній неоднорідності та відсутності універсального маркера, який би характеризував всі астроцити. Існуючі техніки включають класичне гістологічне фарбування та імуноцитохімію (виконується на фіксованих тканинах), генетично контрольовану експресію астроспецифічних флуоресцентних маркерів, інкубацію з флуоресцентними зондами з гліальною спорідненістю або введення флуоресцентних барвників [1].

Астрогліальний синцитій з його анатомічною сегрегацією додають ще один рівень складності, забезпечуючи анатомічно зумовлені канали комунікації. Цікавим предметом дослідження у зв'язку з цим є еволюція астроцитів вищих приматів та людей; ці астроцити відрізняються за складністю, розміром і специфічними типом клітин, а ідеосинкразія людської глії не залежна від клітин. Аналіз багатьох досліджень показав, що можна виділити декілька основних напрямків в ідентифікації астроцитів, які охарактеризовані нижче.

*Класичні гістологічні методи* для ідентифікації астроцитів наступні [2]:

1) Фарбування за Гольджі (методика імпрегнації нітратом срібла), що існує в декількох модифікаціях і дозволяє отримати детальні зображення астроцитів з первинними та вторинними процесами; також може застосовуватися в комбінації з електронною мікроскопією [3-5].

2) Сублімоване золото-хлоридне забарвлення за Кахалем, яке помічає астрогліальні філаменти та нервові закінчення [6-7].

3) Імпрегнація сріблом за Ортегою, яка, з деякими модифікаціями, іноді використовується для позначення астроцитів для світлової та електронної мікроскопії [8].

*Генетичне профілювання астроцитів*

Рівень експресії мРНК генів характеризує стан транскрипції клітини, тим самим забезпечуючи розуміння його функцій, діяльності та стану розвитку, а також (у випадках патології) ступінь патологічної реконструкції. Транскриптомічний профіль астроцитів мозку людини та миші були охарактеризовані технологією мікроматричного аналізу та секвенування РНК в поєднанні з технологіями сортування клітин, такими як сортування флуоресцентно-активованих клітин (FACS) або імуно-«пенінгу» (сортування клітин через сорбент з імобілізованими антитілами або антигеном) імуно- або трансгенно-мічених астроцитів [1].

За допомогою цих досліджень були виявлені нові функції астроцитів, встановлені нові клітинно-специфічні маркери та охарактеризовано молекулярний профіль реактивного астроциту

в моделях захворювання, а також висвітлені відмінності та схожість між астроцитами людини та миші, та між розвиваючоюся та зрілою астроглією.

Дослідження астрогліальних клітин, виділених *in vivo* з кори дорослих мишей з використанням технології FACS, які експресують зелений флуоресцентний білок (GFP) під контролем промоторів GFAP або переносника-1 глутамату (GLT-1) [9]. Було виявлено, що більшість збагачених астроцитами генів (~34%) беруть участь у клітинному метаболізмі, а в астроцитах в порівнянні з нейронами більш високий ступінь експресії генів, які кодують ферменти циклу трикарбонових кислот. Крім того, дане дослідження показало, що астроцити проявляють окислювальний метаболізм в інтактному дорослому мозку і, отже, можуть істотно сприяти функціональному зображенню мозку, в тому числі сигналів MPT, залежних від рівня кисня в крові (BOLD) [9].

На сьогоднішній день не існує геномних досліджень, які б характеризували очікувану гетерогенність астроцитів, тому що більшість досліджень виконувалися на популяціях клітин, в яких ідентифікований маркерний ген або білок. Незважаючи на кілька порівнянь транскриптомів з популяцій астроцитів, які експресують специфічні маркери клітин, наприклад, GFAP- позитивні клітини в порівнянні з GLT1-позитивними [9], ALDH1L1- позитивні з GLT1-позитивними [10] та ALDH1L1-позитивні проти NEPACAM-позитивними [11], не знайдено жодних суттєвих відмінностей між цими популяціями клітин, що вказує на те, що маркери коекспресуються в більшості астроцитів.

Один із способів ідентифікації молекулярної неоднорідності астроцитів полягає в тому, щоб використовувати неупередженість одноклітинної транскриптоміки. Існує декілька досліджень транскриптивної інформації про одиничні астроцити [12-14]. Проте ці дослідження не включають подальшого опису різноманітності астроцитів, можливо тому, що ця інформація не може бути вилучена з даних через порівняно невеликий розмір вибірки. Тільки A. Zeisel зі співавторами [14] зміг ідентифікувати два підкласи астроцитів, що експресують GFAP (тип 1) та MFGE8 (тип 2).

#### *Імуноцитохімічні дослідження*

Універсального маркеру, який би зміг забарвлювати і розрізняти всі астроцити в ЦНС, не існує. Морфологічна неоднорідність астроцитів збігається з істотним різноманіттям в експресії різних молекул і, відповідно, антитіл проти них в субпопуляціях астрогліальних клітин з істотними відмінностями.

**Гліальний фібрилярний кислий білок (GFAP).** GFAP було відкрито на початку 1970-х років [15-16]. Його експресія в астроцитах ЦНС була незабаром встановлена [17-18]. GFAP, з яких астроцити експресують 10 різних ізоформ, належить до розширеної сім'ї проміжних філаментів і, разом з віментином, нестіном і, іноді, синеміном, утворює астрогліальний цитоскелет [19-20]. Наслідком генетичного видалення експресії GFAP є фізіологічні фенотипи малого розміру. В подібних дослідних мишах істотно порушується реактивний астрогліоз, а подвійне видалення експресії GFAP та віментину ще більше порушують реактивність та, відповідно, невропатологію [21-22].

Фарбування астроцитів антитілами GFAP візуалізує лише частку цих клітин зі значною неоднорідністю, пов'язаною з обраною ділянкою мозку. Астроцити в клітинних культурах майже завжди GFAP-позитивні, тоді як у випадку субпопуляції GFAP мічених клітин *in situ* та *in vivo* їх число істотно менше [23]. Найбільша підгрупа GFAP-позитивних астроцитів присутня в молодому гіпокампі, з приблизно 80% (або більше) всіх клітин, помічених відповідними антитілами [4,24]. У той же час більшість астроцитів в інших ділянках здорового мозку не забарвлюється антитілами GFAP [25-27] (Рис.1, А-С).

**Білок S100B.** Глікопротеїн S100B є одним з 24 S100 Ca<sup>2+</sup>-зв'язуючих білків, які експресуються тільки у хребетних тварин і діють як буфери Ca<sup>2+</sup>, так і його перетворювачі для внутрішньоклітинного сигналу Ca<sup>2+</sup> [28]. В ЦНС білок S100B регулює різні аспекти проліферації і диференціації клітин, і він відомий як інгібітор апоптозу [28-30]. Є деякі докази того, що S100B в астроцитах також може сприяти формуванню сигналів Ca<sup>2+</sup> [31]. S100B також пов'язаний з регулюванням збірки проміжних філаментів шляхом інгібування полімеризації GFAP у присутності мікромолярного Ca<sup>2+</sup> [32].

Астроцити продукують і виділяють (за ще не ідентифікованим механізмом) S100B, який має (залежно від концентрації) або нейротрофічний/нейропротекторний чи нейротоксичний ефект, стимулює астрогліальну проліферацію і сприяє (в більш високій концентрації) до астрогліальної реактивності і позитивно регулює активацію мікрогліалів [33-37].

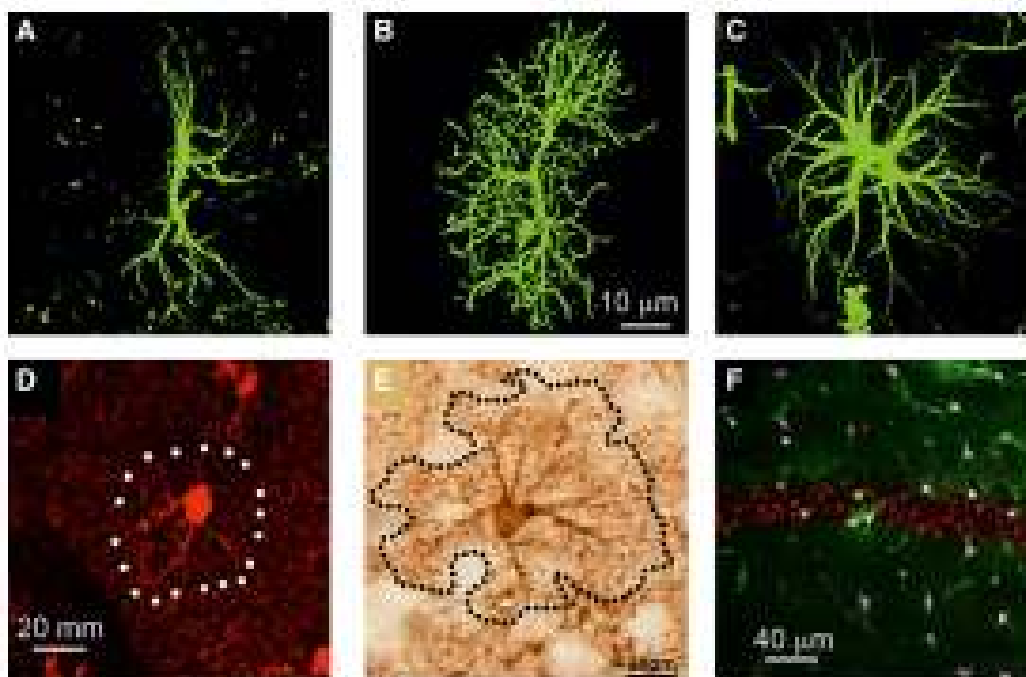
Існують також деякі ознаки того, що S100B виступає регулятором синаптичної пластичності та довгострокового потенціювання [38]. В цілому, S100B займається міжклітинною сигналізацією і може діяти як позаклітинний кур'єр [39]. У патологічних умовах експресія S100B істотно змінюється і підвищення рівня цього білка в сироватці крові і спинномозковій рідині можуть мати певну діагностичну значимість [28].

Завдяки високому рівню експресії, S100B широко використовується як маркер для астроцитів як у фізіології, так і в патології (Рис.1, D-E). Астрогліотична реакція пов'язана з регуляцією S100B. У гіпокампі гризунів S100B, як правило, зафарбовує більше астроцитів, ніж GFAP; тільки біля 80% клітин, забарвлених S100B, також були позитивними для GFAP [4]. У всьому мозку щура антитіло проти S100B забарвлює приблизно в три рази більше астроцитів, ніж GFAP. Також, GFAP забарвлював більше клітин у білій і сірій речовині, і дуже мало GFAP-позитивних профілей були візуалізовані в корі головного мозку та його стовбурі [26]. Специфічність клітин до S100B, однак, значно менша, ніж для GFAP. У ЦНС це виражено не тільки в астроглії, але і в олігодендроцитах, в епендимальних клітинах, в епітелії хориоїдного сплетіння, в ендотеліальних клітинах судин, в лімфоцитах і в деяких нейронах [40].

**Переносники глутамату та глутамін-синтетаза.** Переносники глутамату та глутамін-синтетаза є ключовими молекулами обміну глутамату в ЦНС. Астрогліальні переносники глутамату EAAT-1 (GLAST) і EAAT2 (GLT-1) еспресуються практично виключно в астроцитах [41]. EAAT-1 є найпоширенішим, і відповідні антитіла фарбують радіальну глію, волокнисті і протоплазматичні астроцити, глію Бергмана в мозочку, сітчасту глію Мюллера, радіальну стовбурову глію у зубчастій звивині і субвентрикулярній зоні як у дорослій ЦНС, так і тій, що розвивається [42-44].

Специфічне моноклональне антитіло ACSA-1 до позаклітинних епітопів EAAT-1 мітить більшу частину як протоплазматичних і волокнистих астроцитів, так і глію Бергмана та Мюллера [45]. Існує декілька питань щодо специфіки EAAT-1/2; варіант сплайсингу EAAT-1 (що рідко експресується в астроцитах) в деяких нейронах, в олігодендроцитах, епендимальних клітинах і епітеліальних клітинах хориоїдного сплетіння [46]. У свою чергу EAAT2 показує тимчасову експресію нейронів (включаючи кору головного мозку та базальні ганглії) під час розвитку плода [47].

Глутамін-синтетаза – це цитозольний фермент і тому фарбування з відповідними антитілами включає всю цитоплазму та пересинаптичні процеси [1]. Існує кілька свідчень того, що GS у астроцитах *in vitro* може бути пов'язаний з везикулярними структурами. Глутамін-синтетаза (GS) забарвлює практично всі типи астроцитів (рис. 1, E). Важливо те, що anti-GS антитіла позначають астроцити в багатьох ділянках мозку зі слабкою імунореактивністю до GFAP. В енторінальній корі мишей подвійне фарбування анти-GS і анти-GFAP антитілами показало, що 78% всіх маркованих гліальних клітин були GS-позитивними, 12% – GFAP-позитивними і лише 10% були позитивними до GS і GFAP [48]. Аналогічним чином, у гіпокампі існувала окрема популяція GS-позитивних астроцитів, подвійне фарбування показало, що лише 60% з них клітини були позитивними до GFAP [1]. Можна стверджувати, що GS може розглядатися як найдоступніший астроцитарний маркер.



**Рис.1.** Візуалізація астроцитів гризунів з імунофарбуванням до маркерів GFAP, S100B і глутамін-синтетази. А – GFAP-забарвлені астроцити в енторінальній корі, В – префронтальна кора, С – СА1 області гіпокампу. [1, 49]. D – астроцит, забарвлений антитілом до S100B у зубчастій звивині гіпокампу. Е – астроцити гіпокампа, забарвлені антитілом проти глутамін-синтетази. [1,50], F – кортикальна тканинна підготовка з астроцитами, помітними зеленим (EGFP, виражений під промотором EAAT2) [1].

Таким чином, астроцити демонструють морфологічну неоднорідність в порівнянні з нейронами і тому детальне картографування експресії генів та функціональних особливостей астроцитів у різних ділянках мозку мають першорядне значення. Це завдання далеко не є тривіальним, оскільки ще не виявлено універсального маркеру астрогліальних клітин, ні ідеального астроглія-специфічного промотору, який би дозволив ідентифікувати експресію білка.

Головними напрямками в ідентифікації астроцитів є використання класичних гістологічних методів, генетичного профілювання та імуноцитохімічних досліджень, які мають як свої переваги, так і обмеження для використання, що також суттєво залежить від аналізованої ділянки мозку.

### Література

1. Verkhratsky A., Nedergaard M. Physiology of astroglia //Physiological reviews. – 2017. – Т. 98. – №. 1. – С. 239-389.
2. Bancroft J. D., Gamble M. (ed.). Theory and practice of histological techniques. – Elsevier Health Sciences, 2008.
3. Álvarez, M. I., Rivas, L., Lacruz, C., & Toledano, A. Astroglial cell subtypes in the cerebella of normal adults, elderly adults, and patients with Alzheimer's disease: A histological and immunohistochemical comparison //Glia. – 2015. – Т. 63. – №. 2. – С. 287-312.
4. Ogata K., Kosaka T. Structural and quantitative analysis of astrocytes in the mouse hippocampus //Neuroscience. – 2002. – Т. 113. – №. 1. – С. 221-233.
5. Olude M. A. et al. Astrocyte morphology, heterogeneity, and density in the developing African giant rat (*Cricetomys gambianus*) //Frontiers in neuroanatomy. – 2015. – Т. 9. – С. 67.
6. García-Marín V., García-López P., Freire M. Cajal's contributions to glia research //Trends in neurosciences. – 2007. – Т. 30. – №. 9. – С. 479-487.
7. Naoumenko J., Feigin I. A modification for paraffin sections of the Cajal gold-sublimate stain for astrocytes //Journal of Neuropathology & Experimental Neurology. – 1961. – Т. 20. – №. 4. – С. 602-604.

8. Kito T., Matsushita M. A new staining method of astrocytes for paraffin section //Acta neuropathologica. – 1980. – Т. 49. – №. 1. – С. 67-69.
9. Lovatt, D., Sonnewald, U., Waagepetersen, H. S., Schousboe, A., He, W., Lin, J. H. C., Goldman, S. A. The transcriptome and metabolic gene signature of protoplasmic astrocytes in the adult murine cortex //Journal of Neuroscience. – 2007. – Т. 27. – №. 45. – С. 12255-12266.
10. Yang, Y., Vidensky, S., Jin, L., Jie, C., Lorenzini, I., Frankl, M., & Rothstein, J. D. Molecular comparison of GLT1+ and ALDH1L1+ astrocytes in vivo in astroglial reporter mice //Glia. – 2011. – Т. 59. – №. 2. – С. 200-207.
11. Zhang, Y., Sloan, S. A., Clarke, L. E., Caneda, C., Plaza, C. A., Blumenthal, P. D., Duncan, J. A. Purification and characterization of progenitor and mature human astrocytes reveals transcriptional and functional differences with mouse //Neuron. – 2016. – Т. 89. – №. 1. – С. 37-53.
12. Darmanis, S., Sloan, S. A., Zhang, Y., Enge, M., Caneda, C., Shuer, L. M., Quake, S. R. A survey of human brain transcriptome diversity at the single cell level //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – Т. 112. – №. 23. – С. 7285-7290.
13. Tasic, B., Menon, V., Nguyen, T. N., Kim, T. K., Jarsky, T., Yao, Z., Bertagnolli, D. Adult mouse cortical cell taxonomy revealed by single cell transcriptomics //Nature neuroscience. – 2016. – Т. 19. – №. 2. – С. 335.
14. Zeisel, A., Muñoz-Manchado, A. B., Codeluppi, S., Lönnerberg, P., La Manno, G., Juréus, A., Rolny, C. Cell types in the mouse cortex and hippocampus revealed by single-cell RNA-seq //Science. – 2015. – Т. 347. – №. 6226. – С. 1138-1142.
15. Eng, L., Vanderhaeghen, J. J., Bignami, A., & Gerstl, B. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes //Brain research. – 1971. – Т. 28. – №. 2. – С. 351-354.
16. Uyeda C. T., Eng L. F., Bignami A. Immunological study of the glial fibrillary acidic protein //Brain research. – 1972. – Т. 37. – №. 1. – С. 81.
17. Bignami, A., Eng, L. F., Dahl, D., & Uyeda, C. T. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence //Brain research. – 1972. – Т. 43. – №. 2. – С. 429-435.
18. Massie, A., Schallier, A., Kim, S. W., Fernando, R., Kobayashi, S., Beck, H., Conrad, M. Dopaminergic neurons of system xc<sup>-</sup>-deficient mice are highly protected against 6-hydroxydopamine-induced toxicity //The FASEB Journal. – 2011. – Т. 25. – №. 4. – С. 1359-1369.
19. Hol E. M., Pekny M. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system //Current opinion in cell biology. – 2015. – Т. 32. – С. 121-130.
20. Pekny, T., Faiz, M., Wilhelmsson, U., Curtis, M. A., Matej, R., Skalli, O., & Pekny, M. Synemin is expressed in reactive astrocytes and Rosenthal fibers in Alexander disease //Apmis. – 2014. – Т. 122. – №. 1. – С. 76-80.
21. Pekny, M., Johansson, C. B., Eliasson, C., Stakeberg, J., Wallén, Å., Perlmann, T., Frisén, J. Abnormal reaction to central nervous system injury in mice lacking glial fibrillary acidic protein and vimentin //The Journal of cell biology. – 1999. – Т. 145. – №. 3. – С. 503-514.
22. Wilhelmsson, U., Li, L., Pekna, M., Berthold, C. H., Blom, S., Eliasson, C., Pekny, M. Absence of glial fibrillary acidic protein and vimentin prevents hypertrophy of astrocytic processes and improves post-traumatic regeneration //Journal of Neuroscience. – 2004. – Т. 24. – №. 21. – С. 5016-5021.
23. Walz W. Controversy surrounding the existence of discrete functional classes of astrocytes in adult gray matter //Glia. – 2000. – Т. 31. – №. 2. – С. 95-103.
24. Bushong, E. A., Martone, M. E., Jones, Y. Z., & Ellisman, M. H. Protoplasmic astrocytes in CA1 stratum radiatum occupy separate anatomical domains //Journal of Neuroscience. – 2002. – Т. 22. – №. 1. – С. 183-192.
25. Kimelberg H. K. The problem of astrocyte identity //Neurochemistry international. – 2004. – Т. 45. – №. 2-3. – С. 191-202.
26. Savchenko, V. L., McKanna, J. A., Nikonenko, I. R., & Skibo, G. G. Microglia and astrocytes in the adult rat brain: comparative immunocytochemical analysis demonstrates the efficacy of lipocortin 1 immunoreactivity //Neuroscience. – 2000. – Т. 96. – №. 1. – С. 195-203.

27. Walz W., Lang M. K. Immunocytochemical evidence for a distinct GFAP-negative subpopulation of astrocytes in the adult rat hippocampus //Neuroscience letters. – 1998. – Т. 257. – №. 3. – С. 127-130.
28. Donato, R., Cannon, B. R., Sorci, G., Riuzzi, F., Hsu, K., Weber, D. J., & Geczy, C. L. Function of S100 proteins //Curr Mol Med. – 2013. – Т. 13. – №. 1. – С. 24-57.
29. Hachem, S., Laurenson, A. S., Hugnot, J. P., Legraverend, C. Expression of S100B during embryonic development of the mouse cerebellum //BMC developmental biology. – 2007. – Т. 7. – №. 1. – С. 17.
30. Raponi, E., Agenes, F., Delphin, C., Assard, N., Baudier, J., Legraverend, C., Deloulme, J. C. S100B expression defines a state in which GFAP-expressing cells lose their neural stem cell potential and acquire a more mature developmental stage //Glia. – 2007. – Т. 55. – №. 2. – С. 165-177.
31. Xiong, Z. G., O'Hanlon, D., Becker, L. E., Roder, J., MacDonald, J. F., & Marks, A. Enhanced calcium transients in glial cells in neonatal cerebellar cultures derived from S100B null mice //Experimental cell research. – 2000. – Т. 257. – №. 2. – С. 281-289.
32. Bianchi R, Verzini M, Garbuglia M, Giambanco I, Donato R. Mechanism of S100 protein-dependent inhibition of glial fibrillary acidic protein (GFAP) polymerization. *Biochim Biophys Acta* 1223: 354–360, 1994. doi:10.1016/0167-4889(94)90095-7.
33. Adami, C., Sorci, G., Blasi, E., Agneletti, A. L., Bistoni, F., & Donato, R. S100B expression in and effects on microglia //Glia. – 2001. – Т. 33. – №. 2. – С. 131-142.
34. Bianchi R., Giambanco I., Donato R. S100B/RAGE-dependent activation of microglia via NF- $\kappa$ B and AP-1: Co-regulation of COX-2 expression by S100B, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  //Neurobiology of aging. – 2010. – Т. 31. – №. 4. – С. 665-677.
35. Leclerc, E., Fritz, G., Weibel, M., Heizmann, C. W., & Galichet, A. S100B and S100A6 differentially modulate cell survival by interacting with distinct RAGE (receptor for advanced glycation end products) immunoglobulin domains //Journal of Biological Chemistry. – 2007. – Т. 282. – №. 43. – С. 31317-31331.
36. Untiet, V., Kovermann, P., Gerkau, N. J., Gensch, T., Rose, C. R., & Fahlke, C. Glutamate transporter-associated anion channels adjust intracellular chloride concentrations during glial maturation //Glia. – 2017. – Т. 65. – №. 2. – С. 388-400.
37. Villarreal, A., Seoane, R., González Torres, A., Rosciszewski, G., Angelo, M. F., Rossi, A., Ramos, A. J. S100B protein activates a RAGE-dependent autocrine loop in astrocytes: implications for its role in the propagation of reactive gliosis //Journal of neurochemistry. – 2014. – Т. 131. – №. 2. – С. 190-205.
38. Nishiyama, H., Knöpfel, T., Endo, S., Itoharu, S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2002. – Т. 99. – №. 6. – С. 4037-4042.
39. Donato, R., Sorci, G., Riuzzi, F., Arcuri, C., Bianchi, R., Brozzi, F., ... & Giambanco, I. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. – 2009. – Т. 1793. – №. 6. – С. 1008-1022.
40. Steiner, J., Bernstein, H. G., Bielau, H., Berndt, A., Brisch, R., Mawrin, C., Bogerts, B. Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100B in human brain //BMC neuroscience. – 2007. – Т. 8. – №. 1. – С. 2.
41. Schmitt, A., Asan, E., Püschel, B., & Kugler, P. Cellular and regional distribution of the glutamate transporter GLAST in the CNS of Rats: nonradioactive in situ hybridization and comparative immunocytochemistry //Journal of Neuroscience. – 1997. – Т. 17. – №. 1. – С. 1-10.
42. Barry D., McDermott K. Differentiation of radial glia from radial precursor cells and transformation into astrocytes in the developing rat spinal cord //Glia. – 2005. – Т. 50. – №. 3. – С. 187-197.
43. Shibata, T., Yamada, K., Watanabe, M., Ikenaka, K., Wada, K., Tanaka, K., & Inoue, Y. Glutamate transporter GLAST is expressed in the radial glia-astrocyte lineage of developing mouse spinal cord //Journal of Neuroscience. – 1997. – Т. 17. – №. 23. – С. 9212-9219.
44. Williams, S. M., Sullivan, R. K., Scott, H. L., Finkelstein, D. I., Colditz, P. B., Lingwood, B. E., Pow, D. V. Glial glutamate transporter expression patterns in brains from multiple mammalian species //Glia. – 2005. – Т. 49. – №. 4. – С. 520-541.

45. Jungblut, M., Tiveron, M. C., Barral, S., Abrahamsen, B., Knöbel, S., Pennartz, S., Cremer, H. Isolation and characterization of living primary astroglial cells using the new GLAST-specific monoclonal antibody ACSA-1 //Glia. – 2012. – Т. 60. – №. 6. – С. 894-907.
46. Schmitt, A., Asan, E., Lesch, K. P., Kugler, P. A splice variant of glutamate transporter GLT1/EAAT2 expressed in neurons: cloning and localization in rat nervous system //Neuroscience. – 2002. – Т. 109. – №. 1. – С. 45-61.
47. Northington, F. J., Traystman, R. J., Koehler, R. C., Rothstein, J. D., & Martin, L. J. Regional and cellular expression of glial (GLT1) and neuronal (EAAC1) glutamate transporter proteins in ovine fetal brain //Neuroscience. – 1998. – Т. 85. – №. 4. – С. 1183-1193.
48. Yeh, C. Y., Verkhratsky, A., Terzieva, S., Rodríguez, J. J. Glutamine synthetase in astrocytes from entorhinal cortex of the triple transgenic animal model of Alzheimer's disease is not affected by pathological progression //Biogerontology. – 2013. – Т. 14. – №. 6. – С. 777-787.
49. J Rodríguez, J., M Butt, A., Gardenal, E., Parpura, V., & Verkhratsky, A. Complex and Differential Glial Responses in Alzheimer's Disease and Ageing //Current Alzheimer research. – 2016. – Т. 13. – №. 4. – С. 343-358.
50. Rodríguez-Arellano, J. J., Parpura, V., Zorec, R., & Verkhratsky, A. Astrocytes in physiological aging and Alzheimer's disease //Neuroscience. – 2016. – Т. 323. – С. 170-182.

#### **METHODOLOGICAL ANALYSIS OF ASTROCYTES IDENTIFICATION**

**Makarenko O.M., Petrov P.I., Homyak N.V.**

***Summary.** The aim of astrocytes identification is complex challenge due to their morphological heterogeneity compared to neurons, and absent of universal astroglial marker and ideal astroglia-specific promoter. The main directions in the identification of astrocytes are classical histological methods, genetic profiling and immunocytochemical studies, which all have advantages and limitations to using, which significantly depends on the analyzed brain region.*

***Key words:** astrocytes, identification, histological analysis, genetic profiling, immunocytochemistry, neuroglia.*

**УДК 796.617.055**

#### **МЕТОДИКА СОМАТИКА ХАННА ЯК ЗАСІБ ПРОФІЛАКТИКИ СКОЛІОЗУ І-ІІ СТАДІЇ ЖІНОК ПЕРШОГО ЗРІЛОГО ВІКУ**

**Омельченко Т.Г.**

**Національний університет фізичного виховання і спорту України, Київ**

*Анотація. Актуальність теми дослідження обумовлюється збільшенням кількості жінок першого зрілого віку з порушенням постави, відсутністю ефективних засобів профілактики та корекції даної патології. В статті обґрунтовано ефективність використання методики Соматика Ханна профілактики та корекції сколіозу І-ІІ стадії жінок першого зрілого віку.*

*Ключові слова: методика Соматика Ханна, сколіоз, жінки першого зрілого віку.*

Майбутнє країни визначається демографічними показниками, станом фізичного та психічного здоров'я населення, особливо жінок. В Україні за останні роки показники, які характеризують стан здоров'я жінок, набувають негативної тенденції. Сучасне життя, нажаль,